



UNIVERSITÀ DI PISA

IL PRINCIPIO DELLE 3R NEGLI STUDI PRECLINICI: DAI TESSUTI RICOSTITUITI AGLI APPROCCI COMPUTAZIONALI

DANIELA MONTI

Anno accademico

2023/24

CdS

CHIMICA E TECNOLOGIA
FARMACEUTICHE

Codice

007CE

CFU

3

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
MODULO I	CHIM/09	LEZIONI	14	DANIELA MONTI
MODULO II	BIO/14	LEZIONI	7	SIMONE BROGI

Obiettivi di apprendimento

Conoscenze

Lo scopo del corso è quello di fornire un'adeguata formazione tecnico/regolatoria-legislativa sull'applicazione dei metodi alternativi all'uso degli animali nella ricerca, nello sviluppo di progetti/protocolli sperimentali /prodotti, puntualizzando l'importanza delle 3R. In particolare saranno approfonditi i metodi di indagine che a partire da organi espianati e/o monostrati cellulari hanno portato a simulare una struttura biologica nonché le applicazioni previste per i metodi già convalidati o in fase di convalida. Verranno presi in considerazione i modelli di tessuto ricostituito commercializzati, dal punto di vista delle caratteristiche anatomico-fisiologiche, del campo di applicazione (irritazione, corrosione, assorbimento, drug delivery, infiammazione ecc) in combinazione con la tipologia di prodotto da testare (singolo principio attivo/eccipiente e/o formulazione finita) nei vari ambiti quali farmaco-tossicologico, cosmetico o dispositivo medico.

Indicazioni metodologiche

Lezioni frontali con l'ausilio di slides

Programma (contenuti dell'insegnamento)

Il programma prevede di fornire allo studente una conoscenza di base per quanto riguarda la possibilità di utilizzare metodi alternativi alla sperimentazione animale in campo preclinico. In primis il corso si propone di fornire un'adeguata informazione sulle norme che regolano, dal punto di vista legislativo, lo sviluppo di progetti/protocolli sperimentali che implicano l'uso degli animali puntualizzando l'importanza delle 3R, definite come Refinement (valutazione del danno ed ottimizzazione delle metodiche per ridurre sofferenza); Reduction (uso del numero minimo di animali per dare una validità statistica al dato sperimentale) e Replacement (sostituzione dei test sugli animali con test in vitro). Verrà descritto l'iter legislativo che un metodo deve seguire prima di essere accettato come alternativo dagli enti regolatori europei, evidenziando il ruolo dell'ECVAM (European Centre for Validation of Alternative Methods). Ruolo degli organi di ateneo (OPBA, organismo preposto per il benessere animale). Centro interuniversitario per la promozione dei principi delle 3R nella didattica e nella ricerca (Centro 3R).

Il corso sarà suddiviso in 2 parti: una parte che riguarderà i metodi in silico e l'altra che comprenderà i metodi alternativi alla sperimentazione animale convalidati, in fase di convalida e sperimentali basati su espianato di organi, monostrati cellulari a confluenza e tessuti ricostituiti.

Per quanto riguarda i principali metodi computazionali (in silico) che possono essere considerati alternativi e/o complementari alla sperimentazione animale nel campo del drug discovery verranno evidenziate le metodologie in silico che si applicano alla farmacologia con la possibilità, grazie alla potenza di calcolo raggiunta dai moderni supercomputers e alla solidità dei moderni algoritmi, di creare una sorta di laboratorio virtuale che permetta attraverso una serie di valutazioni in silico di identificare le molecole più promettenti da sottoporre ad un'ulteriore caratterizzazione per provarne l'efficacia verso modelli cellulari o animali di una determinata patologia. Nello specifico saranno illustrati i metodi computazionali per identificare molecole che abbiano un soddisfacente profilo drug-like, dal calcolo delle proprietà chimico-fisiche alla valutazione delle proprietà ADME (assorbimento, distribuzione, metabolismo, eliminazione) utilizzando le più moderne tecniche computazionali (advanced molecular docking calculation and large scale molecular dynamics). Analisi dei metodi per valutare la farmacodinamica e farmacocinetica di una molecola per stabilire il meccanismo di azione e l'interazione con una proteina bersaglio.

Introduzione alla tossicologia in silico. Illustrazione delle metodologie computazionali per stabilire la tossicità di una molecola compresa la mutagenicità/genotossicità e la potenziale interazione con altri farmaci. In questa sezione, il corso sarà focalizzato sulla costruzione di modelli in silico per stabilire la cardiotoxicità, l'epatotossicità, e la tossicità sulla pelle di una molecola. Sempre nell'ambito del principio delle 3R una parte del corso sarà incentrata su quelle che sono le metodologie computazionali per il "drug repurposing/repositioning" con un particolare caso study incentrato sul repurposing di farmaci potenzialmente utile per fornire nuove opportunità terapeutiche contro la tubercolosi. Infine sarà trattata una branca della farmacologia computazionale che sta emergendo negli ultimi anni: la "Quantitative System Pharmacology (QSP)". Attraverso questo tipo di approccio è possibile valutare il destino di un potenziale farmaco nell'organismo. Infatti, questa disciplina utilizza modelli computazionali per descrivere le interazioni dinamiche tra un potenziale farmaco e i meccanismi fisiopatologici di una malattia per



UNIVERSITÀ DI PISA

comprendere il sistema a livello di rete cellulare e biochimica, cercando di affrontare contemporaneamente una serie diversificata di problemi nella scoperta e nello sviluppo di terapie.

Per quanto riguarda la seconda parte, verranno presi in considerazione i modelli di tessuto ricostituito commercialmente disponibili analizzando le caratteristiche anatomico-fisiologiche che li rendono simili ai tessuti nativi principalmente in ambito cutaneo e oculare, marginalmente in ambito intestinale e respiratorio.

Tra i metodi alternativi alla sperimentazione animale utilizzati in campo cutaneo verranno descritti in dettaglio i test di corrosione, irritazione, fototossicità secondo le linee guida internazionali OECD/OCDE 431, 439, 432, rispettivamente. Particolare attenzione verrà rivolta ai test di permeazione/ penetrazione cutanea (OECD/OCDE 428) che ancora presentano delle criticità. In campo oculare, i tessuti ricostituiti vengono utilizzati per test di irritazione andando a sostituire il tradizionale test di Draize secondo OECD TG 492.

I test verranno analizzati in termini di apparecchiatura utilizzata a seconda del tipo di substrato (celle di diffusione verticali tipo Hansom, celle Corning Costar, celle di Camber), di tipologia di prodotto da saggiare (singolo principio attivo/eccipiente e/o formulazione finita), di ambito di applicazione (farmaco-tossicologico, cosmetico o dispositivo medico).

Bibliografia e materiale didattico

Materiale fornito dal docente

Modalità d'esame

Prova orale

Ultimo aggiornamento 31/07/2023 14:10